

## CAPITULO XX

### METODOLOGÍA ANALÍTICA OFICIAL

#### Artículo 1413 (RESFC-2023-30-APN-SCS#MS)

A los efectos establecidos en el Artículo 6º de la Ley N° 18.284, la observancia de las normas del Código Alimentario Argentino será verificada de acuerdo con la metodología analítica del presente Código.

#### Artículo 1413 bis (RESFC-2023-30-APN-SCS#MS)

En forma subsidiaria a la utilización de las metodologías analíticas referidas en los distintos artículos del presente código, se podrán aplicar métodos alternativos cuando el laboratorio demuestre las características de eficiencia que se presentan en la siguiente tabla.

Lo dispuesto en el párrafo anterior no será aplicable a las técnicas de identificación y/o recuento de microorganismos, las cuales deberán aplicarse de conformidad con lo establecido en sus respectivos criterios microbiológicos y/o prescripciones normativas específicas. También se excluyen las metodologías analíticas establecidas por las Resoluciones del Mercado Común del Sur (MERCOSUR).

Además de los criterios de rendimiento, será facultativa la participación en ensayos de aptitud o comparaciones interlaboratorio en relación a las metodologías alternativas aplicadas.

| Parámetro                                    | Criterio de Aceptación   |
|--|--|
| Aplicabilidad <sup>(1)</sup>                 | El método debe ser aplicable a los analitos específicos, el producto especificado y los niveles especificados (máximo, mínimo o ambos).  |
| Rango mínimo aplicable <sup>(2)</sup>        | Respecto de un límite especificado (LE):<br>$\geq 0,1 \text{ mg/kg}$ , [LE - 3.sR, LE + 3.sR]<br>$< 0,1 \text{ mg/kg}$ , [LE - 2.sR, LE + 2.sR]<br>sR = desviación típica de la reproducibilidad (*)                     |
| Límite de detección (LD) <sup>(3)</sup>      | Respecto de un LE $\geq 0,1 \text{ mg/kg}$ , LD $\leq \text{LE}.1/10$ Respecto de un LE $< 0,1 \text{ mg/kg}$ , LD $\leq \text{LE}.1/5$  |
| Límite de cuantificación (LC) <sup>(4)</sup> | Respecto de un LE $\geq 0,1 \text{ mg/kg}$ , LC $\leq \text{LE}.1/5$<br>Respecto de un LE $< 0,1 \text{ mg/kg}$ , LC $\leq \text{LE}.2/5$  |
| Precisión <sup>(5)</sup>                     | Respecto de un LE $\geq 0,1 \text{ mg/kg}$ , valor de HorRat $\leq 2$ Respecto de un LE $< 0,1 \text{ mg/kg}$ , la RSD <sub>R</sub> $< 22\%$<br>RSD <sub>R</sub> = desviación típica relativa de la reproducibilidad (*) |
|  | Se deberá cumplir con los siguientes rangos de recuperación (R).   |

|                          |  |          |
|--------------------------|--|----------|
| Veracidad <sup>(6)</sup> | Concentración  | R (%)    |
|                          | 100g/100g  | 98 – 102 |
|                          | 10 g/100g  | 98 – 102 |
|                          | 1g/100g  | 97 – 103 |
|                          | 1mg/g  | 95 – 105 |
|                          | 100 mg/kg  | 90 – 107 |
|                          | 10 mg/kg   | 80 – 110 |
|                          | 1 mg/kg  | 80 – 110 |
|                          | 100 µg/kg  | 80 – 110 |
|                          | 10 µg/kg   | 60 – 115 |
|                          | 1 µg/kg  | 40 – 120 |
| Conformidad              | En casos en los que se haya demostrado que la recuperación es una función de la matriz, para la evaluación de la conformidad, debería utilizarse preferiblemente material de referencia certificado. |          |

(\*) La  $S_R$  y  $RSD_R$  deberían calcularse aplicando la ecuación Horwitz/Thompson. Cuando la ecuación de Horwitz/Thompson no sea aplicable (por motivos analíticos o de acuerdo con un reglamento) o cuando se “conviertan” métodos en criterios, entonces debería basarse en la  $S_R$  procedente de un estudio apropiado de funcionamiento del método.

(1) El método de análisis debe poder utilizarse satisfactoriamente para los analitos, matrices, categoría de producto o alimento especificada y concentraciones previstas. La aplicabilidad consiste en una declaración de la capacidad de uso, las especificaciones del método, del margen del funcionamiento satisfactorio para cada parámetro como así también de advertencias acerca de las interferencias conocidas de otros analitos, o de la inaplicabilidad a determinadas matrices y situaciones.

(2) El límite especificado (LE) refiere al límite máximo, límite mínimo, límite regulado o grado de concentración acorde con la normativa vigente, según lo que refiera.

El rango de concentración mínimo aplicable debe equivaler a un intervalo que contenga una fracción importante de la variación esperada. La variación esperada sería la desviación estándar de la reproducibilidad ( $S_R$ ) multiplicada por un factor de cobertura ( $k=2$  equivale a un nivel de confianza del 95% aproximadamente, mientras que un  $k=3$  equivale a un 99% de confianza).

Para coeficientes de concentración  $\geq 0,1$  mg/kg ( $\geq 10^{-7}$ ) se aplica la ecuación de Horwitz:  
 $CV_H(\%) = 100 \cdot S_R / c = 2 \cdot C_{LE}$

Despejando la ecuación en función de  $S_R$ :

$$S_R = (c \cdot 2 \cdot C_{LE}^{0,1505}) / 100$$

Donde,

$CV_H$  = coeficiente de variación de Horwitz  $S_R$  = desviación estándar prevista

$c$  = concentración de interés (LE)

$C_{LE}$  = coeficiente de concentración del LE, es decir, la concentración expresada en potencia de 10 (Por ejemplo,  $10^{-7} = 0,0000001$ )

Para coeficientes de concentración  $< 0,1$  mg/kg ( $< 10^{-7}$ ) se aplica la teoría de Thompson:  $S_R = 0,22 \cdot LE$

A modo de ejemplo, a continuación, se muestra una serie de rangos de concentración mínimos aplicables para LE específicos:

|                     |       |       |       |      |      |      |     |
|---------------------|-------|-------|-------|------|------|------|-----|
| <b>LE (mg/kg)</b>   | 0,01  | 0,02  | 0,05  | 0,1  | 1    | 10   | 100 |
| <b>Nivel mínimo</b> | 0,006 | 0,011 | 0,028 | 0,03 | 0,52 | 6,6  | 76  |
| <b>Nivel máximo</b> | 0,014 | 0,029 | 0,072 | 0,17 | 1,48 | 13,3 | 124 |

(3) El límite de detección (LD) es la menor cantidad o concentración de analito que puede detectarse en una muestra, aunque no necesariamente cuantificarse, bajo las condiciones del experimento indicadas. El valor numérico del LD debe ser:

- no más de una décima parte del LE para niveles  $\geq 0,1$  mg/kg
- no más de una quinta parte del LE para niveles  $< 0,1$  mg/kg

(4) El límite de cuantificación (LC) es la menor cantidad o concentración de analito en una muestra que puede determinarse con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones del experimento establecidas. El valor numérico del LC debe ser:

- no más de una quinta parte del LE para niveles  $\geq 0,1$  mg/kg
- no más de dos quintas partes del LE para niveles  $< 0,1$  mg/kg

(5) La precisión se expresa como la desviación estándar relativa obtenida u observada ( $RSD_R$ ) de la reproducibilidad de los resultados. Este valor se compara con la desviación estándar relativa prevista o teórica ( $PRSD_R$ ) de la reproducibilidad.

El grado de precisión se computa como la desviación estándar de los resultados del método, es decir, evalúa la dispersión de los resultados que se obtienen al realizar medidas replicadas sobre una misma muestra (una mayor desviación estándar de los resultados indica una menor precisión del método).

Según Horwitz, el coeficiente entre el valor observado y el valor teórico debería ser  $\leq 2$  (conocido como el valor HorRat). Esta afirmación también es aplicable a la ecuación de Thompson de la  $PRSD_R = 22\%$

$$\frac{RSD_R}{PRSD_R} \leq 2 \Leftrightarrow RSD_R \leq 2 \cdot PRSD_R$$

A modo de ejemplo, a continuación, se muestra la precisión requerida en distintas concentraciones de acuerdo con la ecuación de Horwitz-Thompson:

|   | <b>Thompson</b>  | <b>Ecuación de Horwitz (<math>2C^{-0,1505}</math>)</b> |            |             |             |           |            |             |             |
|---|------------------|--|------------|-------------|-------------|-----------|------------|-------------|-------------|
| <b>Coefficiente de concentración (C)</b>                              | $< 10^{-7}$      | $10^{-7}$  | $10^{-6}$  | $10^{-5}$   | $10^{-4}$   | $10^{-3}$ | $10^{-2}$  | $10^{-1}$   | 1           |
| <b>Unidad de concentración</b>  | $< 0,1$<br>mg/kg | 0,1<br>mg/kg   | 1<br>mg/kg | 10<br>mg/kg | 0,1<br>g/kg | 1<br>g/kg | 10<br>g/kg | 100<br>g/kg | 100<br>g/kg |
| <b>PRSD<sub>R</sub> (%)</b>   | 22               | 22   | 16         | 11          | 8           | 6         | 4          | 3           | 2           |
| <b>RSD<sub>R</sub> <math>\leq 2 \cdot</math> PRSD<sub>R</sub> (%)</b> | $\leq 44$        | $\leq 44$  | $\leq 32$  | $\leq 22$   | $\leq 16$   | $\leq 12$ | $\leq 8$   | $\leq 6$    | $\leq 4$    |

PRSD<sub>R</sub>= Valor previsto para la desviación estándar relativa de la reproducibilidad de los datos.

RSD<sub>R</sub>= Valor observado para la desviación estándar relativa de la reproducibilidad de los datos.

(6) La veracidad es el grado de concordancia entre la expectativa relativa al resultado de un ensayo o de una medición y el valor verdadero. La diferencia entre el resultado de la medida y el valor real del mensurando se lo conoce como sesgo. Habitualmente, se calcula como el porcentaje de analito recuperado o por la diferencia entre el valor obtenido y el valor real evaluado estadísticamente (% de recuperación). La recuperación permite ver el rendimiento de un método analítico en cuanto al proceso de extracción y la cantidad del analito existente en la muestra original.

Se calcula de la siguiente manera:

$$R (\%) = [(C_e - C_o) / C_a] \cdot 100$$

Donde,

C<sub>e</sub>= es la concentración del analito medida en la muestra enriquecida o fortificada.

C<sub>o</sub>= es la concentración de analito medida en la muestra sin fortificar.

C<sub>a</sub>= es la concentración de analito adicionado.

NOTA: En los casos en que el límite especificado sea una relación masa/volumen, se podrán considerar los mismos criterios de aceptación de los parámetros a evaluar.

#### **Artículo 1414 (RESFC-2023-30-APN-SCS#MS)**

A los fines del desarrollo de metodologías analíticas, podrán utilizarse como referencia las siguientes normas internacionalmente reconocidas, sin perjuicio de aquellas otras que establezca la Autoridad Sanitaria Nacional:

AOAC: Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.

AOCS: Official Methods of the American Oil Chemists' Society.

APHA: American Public Health Association

BAM – FDA: Bacteriological Analytical Manual – U. S. Food and Drug Administration

CODEXSTAN234-1999: Recommended Methods of Analysis and Sampling–Codex Alimentarius.

COI: International Olive Council.

Farmacopeas internacionalmente reconocidas.

ICMSF: The International Commission on Microbiological Specifications for Foods.

ISO: International Standard Organization.

USDA: United States Department of Agriculture.

#### **Artículo 1414 bis (Res. Conj. SPReI 181/2008 y SAGPyA 479/2008)**

(Incorporación de la RESOLUCIÓN GMC N° 32/99)

**METODOLOGIAS ANALITICAS DE REFERENCIA PARA CONTROL DE ENVASES Y EQUIPAMIENTOS EN CONTACTO CON ALIMENTOS.**

Plásticos:

Determinación de acetato de vinilo en simulantes de alimentos: Documento CEN/TC 194/SCI/ WG2:N63.

Determinación de ácido maleico/anhídrido maleico en simulantes de alimentos: Documento CEN/TC 194/SCI/WG2:N114.

Determinación de ácido metacrílico en simulantes de alimentos: Documento CEN/TC 194/ WG 5/TG 2:54/91.

Determinación de ácido tereftálico en simulantes de alimentos: se utilizará el Documento CEN/ TC 194/WG 5/TG 2:54/91 (ácido metacrílico).

Determinación de acrilonitrilo en simulantes de alimentos: Documento CEN/TC 194/WG5/ TG2: 59/9.

Determinación de aminas primarias aromáticas no sulfonadas en pigmentos y colorantes solubles en solvente: Norma DIN 55610 o ETAD 212.

Determinación de Bisfenol A en simulantes de alimentos: Documento CEN/TC 194/SC 1/WG 2 :N70.

Determinación de 2,2-bis(4-hidroxifenil)propano- bis-2,3-epoxipropil)éter (BADGE) en simulantes de alimentos. Método A: Documento CEN/TC 194/SCI/WG2:N107.

Determinación de 2,2-bis(4-hidroxifenil)propano- bis-2,3-epoxipropil) éter (BADGE) en simulantes de alimentos. Método B: Documento CEN/ TC 194/SCI/WG2:N115.

Determinación de caprolactama en simulantes de alimentos: Documento CEN/TC 194/SCI/ WG2:N59.  
Determinación de la migración del cloruro de vinilideno monómero (CVDm) de objetos a base de poli cloruro de vinilideno y sus copolímeros:

Decreto Ministeriale del 18 de junio de 1979 – Gazzetta Ufficiale Della Repubblica N° 180 (ITALIA).

Determinación de formaldehído en simulantes de alimentos: Documento CEN/TC 194/SCI/ WG2:N42.

Determinación de 1-octeno en simulantes de alimentos: Documento CEN/TC 194/SCI/ WG2:N63.

Determinación de 1,1,1-trimetilolpropano en simulantes de alimentos: Documento CEN/TC 194/SCI/WG2:N115.

Celulósicos:

Preparación de un extracto en agua fría: Norma EN 645 (CEN).

Preparación de un extracto en agua caliente: Norma EN 647 (CEN).

Determinación de la solidez del color de papeles y cartones coloreados: Norma EN 646 (CEN).

Determinación de la solidez de papeles y cartones tratados con blanqueadores fluorescentes: Norma EN 648 (CEN).

Determinación de formaldehído en un extracto acuoso: Norma EN 1541 (CEN).

Determinación de mercurio en un extracto acuoso: Norma ENV 12497 (CEN).

Determinación de siete bifenilos policlorados (PCB) especificados: Norma ENV 1798 (CEN).

Elastoméricos:

Se tomarán como Metodologías de Referencia para las determinaciones de migraciones específicas de monómeros y para las concentraciones de monómeros residuales, las mismas utilizadas para plásticos.

Ditiocarbamatos, tiouramos y xantogenatos; Peróxidos; Aminas primarias aromáticas:

Para estas tres determinaciones se tomarán como Metodologías de Referencia las del Decreto Ministeriale del 21 de marzo de 1973 – Gazzetta Ufficiale N° 104 – Sezione 3 – Rivelazione della migrazione di traze di coadiuvanti tecnologici.

#### **Artículo 1414 tris (RESFC-2023-30-APN-SCS#MS)**

Las metodologías transversales para las especias canela, cedrón, orégano, nuez moscada, pimentón, pimienta blanca, pimienta negra y tomillo son las siguientes:

| <b>Parámetro Físico Químico</b>               | <b>Determinación <sup>(1)</sup></b>   |
|---|---|
| <b>Humedad/Agua</b>                           | ISO 939:1980 Especies y Condimentos – Determinación del contenido de humedad. Método por arrastre. Principio analítico: destilación. ASTA 2.0 y ASTA 2.1* |
| <b>Cenizas Totales</b>                        | ISO 928:1997 Especies y Condimentos – Determinación de cenizas totales. Principio analítico: gravimetría. ASTA 3.0  |
| <b>Cenizas Insolubles</b>                     | ISO 930:1997 Especies y Condimentos – Determinación de cenizas insolubles en ácido. Principio analítico: gravimetría. ASTA 4.0                            |
| <b>Aceite volátil/Esencia por destilación</b> | ISO 6571:2008/Cor. 1:2017 Especies, Condimentos y Hierbas – Determinación del contenido de aceite volátil. Principio analítico: destilación. ASTA 5.0     |

|                                  |  |
|----------------------------------|--|
| <b>Extracto etéreo</b>           | ISO 1108:1992 Especies y Condimentos – Determinación de extracto etéreo no-volátil.<br>Principio analítico: destilación. ASTA 11.0   |
| <b>Materias extrañas</b>         | ISO 927:2009/Cor. 1:2012 Especies y Condimentos – Determinación de materia extraña (versión vigente 2015).<br>Principio analítico: examinación visual.                                     |
| <b>Fibra cruda/Fibra bruta</b>   | ISO 5498:1981 Productos alimenticios agrícolas – Determinación del contenido de fibra cruda. Método general.<br>Principio analítico: gravimetría. ASTA 7.0                                 |
| <b>Pungencia y oleorresinas*</b> | ASTA 21.3-1998 Determinación del grado de pungencia del pimentón, en base a su contenido de capsaicina (g capsaicina/gramo de pimentón, base seca).<br>Principio analítico: cromatografía. |
| <b>Índice de color*</b>          | ASTA 20.1. Determinación de color extractable en pimentón y sus oleorresinas.<br>Principio analítico: colorimetría.  |

(<sup>1</sup>) o su versión más actualizada.

\* Para el caso de pimentón.”

#### **Artículo 1414 quater (RESFC-2023-30-APN-SCS#MS)**

La evaluación de la genuinidad de las especias contempladas en el presente Código se realizará de conformidad con las metodologías analíticas que se detallan a continuación:

#### **A. TÉCNICA DE DIAFANIZACIÓN DE STRITTMATTER**

Versión: 1 – Fecha de revisión: septiembre 2020.

##### 1. Objetivo y alcance.

Establecer el procedimiento para transparentar los tejidos sin disgregarlos.

##### 2. Referencias

2.1. "Nueva técnica de diafanización". Dizeo de Strittmatter, C. (1973) Bol.

Soc. Arg. Bot. 15(1):126-129.

##### 3. Desarrollo.

##### 3.1. Equipos y materiales

3.1.1. Mechero o plancha calefactora.

3.1.2. Vaso de precipitados.

3.1.3. Taco de sauco o de telgopor.

3.1.4. Agujas histológicas o de disección.

3.1.5. Pinza de punta fina.

3.1.6. Hoja de bisturí u hoja para afeitar.

3.1.7. Espátulas.

3.1.8. Alcohol 96°.

3.1.9. Hidróxido de sodio 5% m/v

3.1.10. Hipoclorito de sodio 50% v/v.

3.1.11. Agua corriente.

3.1.12. Agua destilada.

3.1.13. Hidrato de cloral 5% m/v.

3.1.14. Alcohol 70°.

3.2. Procedimiento.

3.2.1. Colocar el material a diafanizar en un vaso de precipitados con alcohol 96° y llevar a ebullición durante 10 minutos.

3.2.2. Pasar a una solución de alcohol 96° e hidróxido de sodio al 5% en partes iguales. Hervir durante 5 a 10 minutos, según la consistencia del material.

3.2.3. Lavar con agua corriente, haciendo cambios hasta que el agua quede totalmente limpia. Hacer dos cambios más con agua destilada.

3.2.4. Colocar el material en hipoclorito de sodio al 50% hasta que se torne completamente transparente. El tiempo necesario será desde unos pocos minutos hasta una hora. Observar continuamente.

3.2.5. Lavar 5 veces con agua destilada durante 3 minutos cada vez.

3.2.6. Colocar finalmente el material en tratamiento en hidrato de cloral durante 5-10 minutos para quitarle opacidad.

3.2.7. Para conservar el material mantenerlo en alcohol 70°.

## **B. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIAS EN HOJAS ENTERAS O FRAGMENTADAS Y DETERMINACIÓN DE IMPUREZAS**

Versión: 1 – Fecha de revisión: septiembre 2020.

1. Objetivo y alcance.

Establecer un procedimiento para el análisis macro y microscópico de hojas enteras o fragmentadas de especias, para determinar la genuinidad del producto.

2. Referencias.

2.1. “Documento de Mínimos de Calidad”. (2011). Asociación Europea para las Especias.

2.2. Microscopía analítica. Wallis, T.E. (1968). Zaragoza: Ed. Acribia. 318pp.

2.3. Anatomía Vegetal. Esau, K. (1976). Barcelona: Ed. Omega, S.A. 779pp.

2.4. Morfología de las plantas superiores. Valla, J.J. (1979). Buenos Aires: Ed. Hemisferio Sur S.A. 332pp.

2.5. Spices, Volumen II. Parry, J. W. (1969). Nueva York: Chemical Publishing Company, Inc.

2.6. The Microscopy of Vegetable Foods. Winton, A. L., Moeller J. & Barber Winton K. (1916). Nueva York: John Wiley & Sons.

2.7. Mikroskopie der Nahrungs- und Genußmittel aus dem Pflanzenreiche. Moeller, J. & Dr. Griebel, C. (1928). Berlín: Verlag von Julius Springer.

2.8. Annexes microphotographiques aux Méthodes Officielles d'Analyse. Atlas Microphotographique d'Anatomie Végétale. Tome I: Céréales, Légumineuses, Féculents. Stoll, S. (1966). París: Service de la Répression des Fraudes et du Contrôle de la Qualité.

2.9. Annexes microphotographiques aux Méthodes Officielles d'Analyse. Atlas Microphotographique d'Anatomie Végétale. Tome II: Épices-Aromates, Fruits, Stimulants. Stoll, S. (1967). París: Service de la Répression des Fraudes et du Contrôle de la Qualité.

2.10. ISO 927.2009 Spices and condiments – Determination of extraneous matter and foreign matter content. Versión vigente.

2.11. IRAM 18983 Especies y hierbas culinarias – Determinación del contenido de las impurezas por observación directa. Versión vigente.

3. Desarrollo.

3.1. Definiciones.

3.1.1. Materia ajena macroscópica: Toda materia visible al ojo desnudo o con un aumento de 10X como máximo, que no es parte de la planta a la que pertenece la especia o hierba. Esta puede ser no animal (por ejemplo, tallos, piedras, vidrios, plásticos, metal, etc.) o animal (por ejemplo, insectos enteros, fragmentos de insectos, excrementos, etc.).

3.1.2. Materia extraña macroscópica: Toda materia visible al ojo desnudo o con un aumento de 10X como máximo, que es otra parte de la planta diferente de la parte empleada (por ejemplo, tallos, flores).

3.2. Equipos y materiales.

3.2.1. Microscopio óptico.

3.2.2. Microscopio estereoscópico o lupa.

3.2.3. Mechero o plancha calefactora.

3.2.4. Vasos de precipitado.

3.2.5. Placas de Petri.

3.2.6. Espátulas.

3.2.7. Agujas histológicas o de disección.

3.2.8. Pinzas de punta fina.

3.2.9. Balanza analítica de precisión.

3.2.10. Balanza granataria.

3.2.11. Portaobjetos.

3.2.12. Cubreobjetos.

3.2.13. Taco de sauco o telgopor.

3.2.14. Hojas de bisturí u hoja para afeitar.

3.2.15. Agua corriente.

3.2.16. Hidróxido de sodio al 5 % m/v.

3.2.17. Lugol (IK 1 g: iodo metálico: 1 g: agua destilada: 100 ml).

3.3. Procedimiento.

*Determinación de materia extraña y/o ajena*

3.3.1. Homogeneizar la muestra previamente a la toma de la porción de ensayo. El tamaño mínimo de la porción de ensayo considerado para hojas de hierbas es de 5 g.

3.3.2. Colocar la porción de ensayo en una placa de Petri y examinar a ojo desnudo o en la lupa con aumento de 10X como máximo, el estado general del producto separando toda la materia extraña o ajena, o ambas.

3.3.3. Pesar la materia extraña y ajena no animal separadas en el punto 3.3.2.

3.3.4. Calcular la fracción en masa de la materia extraña,  $W_{ME}$ , y la fracción en masa de la materia ajena no animal,  $W_{MA}$ , expresadas en porcentaje, mediante las siguientes fórmulas:

$$W_{ME} = 100 \cdot \frac{m_{ME}}{m_s}$$

$$W_{MA} = 100 \cdot \frac{m_{MA}}{m_s}$$

siendo:

$m_{ME}$ : masa de la materia extraña, en gramos.

$m_{MA}$ : masa de la materia ajena no animal, en gramos.

$m_s$ : masa de la muestra de laboratorio o de la porción de ensayo según corresponda, en gramos.

*Observación microscópica: Muestra hidratada*

3.3.5. Hidratar una porción de la materia extraña y ajena no animal separada en el ítem 3.3.2. luego de cumplido el ítem 3.3.3.

3.3.6. Montar con agua entre portaobjeto y cubreobjeto una pequeña cantidad de material hidratado.

3.3.7. Encender el microscopio.

3.3.8. Observar al microscopio a 100X – 400X, contrastando con material de referencia (especies testigo) y/o bibliografía (ver ítem 2.0. Referencias).

3.3.9. De ser necesario, para diferenciar y/o identificar los amiloplastos, teñir con lugol, colocando una gota en uno de los bordes entre portaobjeto y cubreobjeto.

3.3.10. Preparar y observar tantos preparados como sean necesarios para asegurarse la conclusión de lo que se observa.

*Observación microscópica: Muestra hidrolizada*

3.3.11. Para observar los elementos histológicos disgregados, a partir de la muestra original, colocar una pequeña cantidad en un vaso de precipitado de 50 ml con hidróxido de sodio al 5% y llevar a ebullición. El tiempo de hidrólisis dependerá de la consistencia de la muestra.

3.3.12. Retirar de la plancha calefactora y agregar agua corriente fría al material hidrolizado para detener la hidrólisis.

3.3.13. Dejar decantar, descartar el sobrenadante y volver a enjuagar con agua corriente fría, descartando cada vez el sobrenadante.

3.3.14. Encender el microscopio.

3.3.15. Montar entre portaobjeto y cubreobjeto una pequeña cantidad de material hidrolizado.

3.3.16. Observar el material hidrolizado en microscopio óptico a 100X – 400X, contrastando con material de referencia (especies testigo) y/o bibliografía (ver ítem 2.0. Referencias).

3.3.17. Preparar y observar tantos preparados como sean necesarios para asegurarse la conclusión de lo que se observa.

*Observación microscópica: Cortes transversales de hojas*

3.3.18. Para observar cortes transversales de hojas, colocarlas en un taco directamente si son frescas o darles un hervor previo en el caso de material seco entre 2-4 minutos, dependiendo de la consistencia de la hoja.

3.3.19. Realizar los cortes a mano alzada.

3.3.20. Colocar el material con ayuda de una pinza sobre un portaobjetos, montar con agua y observar al microscopio, contrastando con material de referencia (especies testigo) y/o bibliografía (ver ítem 2.0. Referencias).

3.3.21. Preparar y observar tantos preparados como sean necesarios para asegurarse la conclusión de lo que se observa.

3.3.22. Si resultara necesario transparentar aún más los tejidos o identificar su disposición estructural sin disgregarlos, utilizar la Técnica de Diafanización de Strittmatter.

### **C. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIAS ENTERAS O MOLIDAS Y DETERMINACIÓN DE IMPUREZAS**

Versión: 1 – Fecha de revisión: septiembre 2020.

#### 1. Objetivo y alcance.

Establecer un procedimiento para el análisis macro y microscópico de especias en polvo, en trozos o frutos enteros (no hojas), para determinar la genuinidad del producto.

#### 2. Referencias

2.1. “Documento de Mínimos de Calidad”. (2011). Asociación Europea para las Especies.

2.2. Microscopía analítica. Wallis, T.E. (1968). Zaragoza: Ed. Acribia. 318pp.

2.3. Anatomía Vegetal. Esau, K. (1976). Barcelona: Ed. Omega, S.A. 779pp.

2.4. Morfología de las plantas superiores. Valla, J.J. (1979). Buenos Aires: Ed. Hemisferio Sur S.A. 332pp.

2.5. Spices, Volume II. Parry, J. W. (1969). Nueva York: Chemical Publishing Company, Inc.

2.6. The Microscopy of Vegetable Foods. Winton, A. L., Moeller J. & Barber Winton K. (1916). Nueva York: John Wiley & Sons.

2.7. Mikroskopie der Nahrungs- und Genußmittel aus dem Pflanzenreiche. Moeller, J. & Dr. Griebel, C. (1928). Berlín: Verlag von Julius Springer.

2.8. “Adulterants in Spices: Microscopic Examination Method Procedure”. AOAC Official Method 916.01. (2005).

2.9. Annexes microphotographiques aux Méthodes Officielles d’Analyse. Atlas Microphotographique d’Anatomie Végétale. Tome I: Céréales, Légumineuses, Féculents. Stoll, S. (1966). París: Service de la Répression des Fraudes et du Contrôle de la Qualité.

2.10. Annexes microphotographiques aux Méthodes Officielles d’Analyse. Atlas Microphotographique d’Anatomie Végétale. Tome II: Épices-Aromates, Fruits, Stimulants. Stoll, S. (1967). París: Service de la Répression des Fraudes et du Contrôle de la Qualité.

2.11. ISO 927.2009 Spices and condiments – Determination of extraneous matter and foreign matter content.

2.12. IRAM 18983 Especies y hierbas culinarias – Determinación del contenido de las impurezas por observación directa. Versión vigente.

### 3. Desarrollo.

#### 3.1. Definiciones.

3.1.1. Materia ajena macroscópica: Toda materia visible al ojo desnudo o con un aumento de 10X como máximo, que no es parte de la planta a la que pertenece la especia o hierba. Esta puede ser no animal (por ejemplo, tallos, piedras, vidrios, plásticos, metal, etc.) o animal (por ejemplo, insectos enteros, fragmentos de insectos, excrementos, etc.).

3.1.2. Materia extraña macroscópica: Toda materia visible al ojo desnudo o con un aumento de 10X como máximo, que es otra parte de la planta diferente de la parte empleada (por ejemplo, tallos, flores).

#### 3.2. Equipos y materiales

3.2.1. Microscopio óptico.

3.2.2. Microscopio estereoscópico o lupa.

3.2.3. Mechero o plancha calefactora.

- 3.2.4. Vasos de precipitado.
- 3.2.5. Placas de Petri.
- 3.2.6. Espátulas.
- 3.2.7. Agujas histológicas o de disección.
- 3.2.8. Pinzas de punta fina.
- 3.2.9. Balanza analítica de precisión.
- 3.2.10. Balanza granataria.
- 3.2.11. Portaobjetos.
- 3.2.12. Cubreobjetos.
- 3.2.13. Taco de sauco o telgopor.
- 3.2.14. Hojas de bisturí u hoja para afeitar.
- 3.2.15. Agua corriente.
- 3.2.16. Hidróxido de sodio al 5 % m/v.
- 3.2.17. Lugol (IK 1 g: iodo metálico: 1 g: agua destilada: 100 ml).

### 3.3. Preparación de la muestra.

- 3.3.1. Productos en polvo: Homogeneizar. Conservar en un recipiente cerrado.
- 3.3.2. Productos en trozos/fruto entero: Raspar, moler, rallar o picar.

### 3.4. Procedimiento.

#### *Determinación de materia extraña y/o ajena*

3.4.1. Tomar la porción de ensayo según indica la tabla 1 y colocarla en placa de Petri para examinar, a ojo desnudo o en la lupa con aumento de 10X como máximo, el estado general del producto separando toda la materia extraña o ajena, o ambas.

3.4.2. Pesar la materia extraña y ajena no animal separadas en el punto 3.4.1.

3.4.3. Calcular la fracción en masa de la materia extraña,  $W_{ME}$ , y la fracción en masa de la materia ajena no animal,  $W_{MA}$ , expresadas en porcentaje, mediante las siguientes fórmulas:

$$W_{ME} = 100 \cdot m_{ME} / m_s$$

$$W_{MA} = 100 \cdot m_{MA} / m_s$$

siendo:

$m_{ME}$ : masa de la materia extraña, en gramos.

$m_{MA}$ : masa de la materia ajena no animal, en gramos.

$m_s$ : masa de la muestra de laboratorio o de la porción de ensayo según corresponda, en gramos.

TABLA 1 – Tamaño de la muestra de laboratorio y de la porción de ensayo.

| Densidad del producto | Producto                         | Tamaño de la muestra de laboratorio (g)        | Tamaño apropiado de la porción de ensayo (g)   | Tamaño mínimo de la porción de ensayo (g)     |
|-----------------------|----------------------------------|--|--|---|
| Alta                  | Pimienta de Jamaica              | 500  | 100  | 100   |
|                       | Anís (semillas)                  |  | 100  | 10  |
|                       | Alcaravea (semillas)             |  | 100  | 10  |
|                       | Cardamomo (semillas)             |  | 100  | 100   |
|                       | Casia / canela                   |  | 100  | 50  |
|                       | Apio (semillas)                  |  | 100  | 10  |
|                       | Clavos                           |  | 100  | 10  |
|                       | Coriandro (semillas)             |  | 100  | 10  |
|                       | Comino (semillas)                |  | 100  | 10  |
|                       | Eneldo (semillas)                |  | 100  | 10  |
|                       | Hinojo (semillas)                |  | 100  | 10  |
|                       | Ajo                              |  | 100  | 10  |
|                       | Jengibre                         |  | 100  | 100   |
|                       | Enebro (bayas)                   |  | 100  | 100   |
|                       | Nuez moscada (entera y quebrada) | 100 nueces enteras o 500 g de nueces quebradas | 100 nueces enteras o 500 g de nueces quebradas | 50 nueces enteras o 250 g de nueces quebradas |
|                       | Cebolla                          | 500  | 100  | 10  |

|      |                           |     |     |     |
|------|---------------------------|-----|-----|-----|
|      | Pimienta (negra y blanca) |     | 100 | 100 |
|      | Amapola (semillas)        |     | 100 | 10  |
|      | Sésamo (semillas)         |     | 100 | 10  |
|      | Cúrcuma                   |     | 100 | 100 |
| Baja | Pimientos                 | 250 | 100 | 100 |
|      | Macis                     |     | 25  | 25  |
|      | Hojas de hierbas          |     | 25  | 5   |
| Otra | Azafrán                   | 3   | 3   | 0,5 |

*Observación microscópica: Muestra hidratada*

3.4.4. Hidratar el material preparado según el ítem 3.3.

3.4.5. Encender el microscopio.

3.4.6. Montar con agua entre portaobjeto y cubreobjeto una pequeña cantidad de material hidratado y observar al microscopio a 100X – 400X, contrastando con material de referencia (especies testigo) y/o bibliografía (ver ítem 2.0. Referencias).

3.4.7. De ser necesario, para diferenciar y/o identificar los amiloplastos teñir con lugol, colocando una gota en uno de los bordes entre portaobjeto y cubreobjeto.

3.4.8. Preparar y observar tantos preparados como sean necesarios para asegurarse la conclusión de lo que se observa.

*Observación microscópica: Muestra hidrolizada*

3.4.9. Para observar los elementos histológicos disgregados, a partir de la muestra original, colocar una pequeña cantidad en un vaso de precipitado de 50 ml con hidróxido de sodio al 5% y llevar a ebullición. El tiempo de hidrólisis dependerá de la consistencia de la muestra.

3.4.10. Retirar de la plancha calefactora y agregar agua corriente fría al material hidrolizado para detener la hidrólisis.

3.4.11. Dejar decantar, descartar el sobrenadante y volver a enjuagar con agua corriente fría, descartando cada vez el sobrenadante.

3.4.12. Encender el microscopio.

3.4.13. Montar entre portaobjeto y cubreobjeto una pequeña cantidad de material hidrolizado.

3.4.14. Observar el material hidrolizado en microscopio óptico a 100X – 400X, contrastando con material de referencia (especies testigo) y/o bibliografía (ver ítem 2.0. Referencias).

Preparar y observar tantos preparados como sean necesarios para asegurarse la conclusión de lo que se observa.